

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE

DE LYON

Année 1980 - N. 63

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA VACCINATION ANTIRABIQUE DU CHAT**

**Contrôle sérologique (séroneutralisation) de l'immunité
comparativement in vitro (méthode de réduction du nombre
de plages) et in vivo (inoculation à la souris)**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 6 mai 1980

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Viviane REBOUL - THOMASSET

née le 18 janvier 1955

à LYON





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554213_0010

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE

DE LYON

Année 1980 - N.

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA VACCINATION ANTIRABIQUE DU CHAT**

Contrôle sérologique (séroneutralisation) de l'immunité
comparativement in vitro (méthode de réduction du nombre
de plages) et in vivo (inoculation à la souris)

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 6 mai 1980

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Viviane REBOUL - THOMASSET

née le 18 janvier 1955

à LYON



CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE LA VACCINATION ANTIRABIQUE DU CHAT

Compte rendu des travaux effectués pendant l'année 1952-53
concernant la vaccination antirabique du chat
et les résultats de la réaction de neutralisation

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
(Médecine - Vétérinaire)

par le Docteur en Médecine Vétérinaire
Monsieur THOMASSET

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire



VICOMTE HENRI THOMASSET

né le 12 janvier 1922

à LYON



PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE

VETERINAIRE DE LYON

Directeur	Monsieur le Professeur Ph. COTTEREAU
Directeurs Honoraires	Messieurs les Professeurs TAPERNOUX, FLORIO FROGET.

PROFESSEURS :

I - Pharmacie et Toxicologie	M. LORGUE
2 - Anatomie descriptive - Extérieur - Anatomie appliquée	M. BARONE
3 - Physiologie - Thérapeutique - Pharmacodynamie	M. BOST
4 - Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique	M. TISSEUR
5 - Hygiène et industrie des Aliments d'origine animale	M. FLACHAT, CHANTEGRELET
6 - Parasitologie et Maladies parasitaires	M. EUZEBY
7 - Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores - Législation Vétérinaire.....	M. FONTAINE
8 - Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	M. COTTEREAU
9 - Technique chirurgicale - Pathologie Chirurgicale	M. COULON
10 - Obstétrique - Pathologie de la reproduction	M. BERTRAND
II - Pathologie générale - Microbiologie	M. OUDAR
12 - Ethnologie - Zootechnie - Economie rurale	M. FROGET
13 - Botanique appliquée - Agronomie - Alimentation	M. WOLTER
14 - Physique et Chimie biologiques et médicales	M. DELATOUR
15 - Maladies Contagieuses - Zoonoses - Législation sanitaire	M. JOUBERT

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. DESCHANEL, JEAN-BLAIN, LAPRAS, LE NIHOUANNEN, LAVAL

MAITRES DE CONFERENCES

MM. BOIVIN, GASTELLU, PRAVE.

MAITRES-ASSISTANTS

Mr. BELLI, Mme CHAUVE, M. EUZEBY, MM. FRANCK, FAU, GARNIER, GEVREY, GOUY, KECK, LEGEAY, NEYRET,
Mme RACHAIL, M. RICHARD.

ASSISTANTS

MM. BEZEAU, Melle COURSAT, MM. DEMONT, DENOIX, DESCOTES, Mme FURNEL, MM. GALEA, GENIN, GUIGUEN,
Melle JANUEL, MM. JAUSSAUD, MAY, Mme CHAPPUIS, M. PERROTIN.

EXAMINATEURS DE LA THESE.

Président Monsieur le Professeur BERTOYE de la Faculté de Médecine,
Premier Assesseur Madame le Professeur A. LAVAL, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON
Deuxième Assesseur Monsieur le Professeur FONTAINE de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON.

L'Université Claude-Bernard (Médecine Pharmacie) de LYON et l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.

A mon mari

A ma fille Pauline

A mes parents, et grands parents

*en témoignage de mon affection
et de ma reconnaissance.*

A tous mes amis.

A Monsieur le Professeur BERTOYE

Professeur à la Faculté de Médecine de Lyon

*Nous le remercions d'avoir accepté
la présidence de notre jury.*

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur JOUBERT
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

*Pour ses précieux conseils et l'accueil
bienveillant qu'il nous a toujours réservé,*

*Qu'il veuille bien trouver ici l'expres-
sion de notre affectueuse reconnaissance.*

Monsieur le Docteur PRAVE
Maître de conférence à l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Lyon

Qui a bien voulu juger notre travail,

Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur G, BIJLENGA
Ancien expert FAO-OMS
Chef de l'Unité Rhabdo virus de
l'Institut Pasteur de Lyon

*Qui a contribué grandement
à la réalisation de ce travail.*

*Qu'il nous permette d'exprimer
ici notre profonde gratitude.*

A Monsieur le Docteur G. CHAPPUIS
IFFA MERIEUX

*Pour l'aide précieuse qu'il nous
a apportée*

Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur J.P, SOULEBOT
IFFA MERIEUX

A Monsieur TIXIER
IFFA MERIEUX

Tous nos remerciements.

- I N T R O D U C T I O N -

De par ses moeurs vagabondes et nocturnes favorisant les contacts avec le renard et la haute infectiosité des blessures qu'il occasionne (mortelles pour 70% des cas) (1), le chat constitue un redoutable danger pour l'homme en matière de rage.

C'est pourquoi devrait s'associer à l'actuelle prophylaxie sanitaire draconienne (abat-tage des chats errants) une vaccination la plus systématique possible, comportant toutefois l'absence de mesures conservatoires lors de contamination d'un sujet vacciné.

Ainsi est illustrée l'importance de la vaccination antirabique de cette espèce et l'opportunité de contrôler l'immunité conférée.

Cette protection peut être mise en évidence par de nombreux tests sérologiques parmi lesquels les séroneutralisations in vivo : Inoculation à la souris et in vitro : Méthode de réduction du nombre de plages * nous paraissent plus particulièrement intéressantes.

Enfin, grâce à la comparaison de ces deux méthodes, l'étude de l'évolution de l'immunité en fonction de différents paramètres pourra être effectuée.

* dite : "Méthode des plages".

PREMIÈRE PARTIE

PLACE DE LA VACCINATION DANS LA
PROPHYLAXIE ANTIRABIQUE DU CHAT.

C H A P I T R E 1er

=====

Epidémiologie de la rage du chat en FRANCE.

L'épizootie rabique sévissant actuellement en France est de type sylvatique. Elle a pour principal vecteur, le renard. La densité de population vulpine et la biologie du renard sont donc des éléments majeurs conditionnant son épidémiologie (2).

Néanmoins l'extension de la rage est liée également aux relations entre carnivores domestiques et sauvages pour une part non négligeable, exposant ainsi gravement l'homme.

Comme le témoigne le tableau n° 1, les chats constituent l'espèce la plus fréquemment contaminée après le renard, abstraction faite des bovins, qui ne pouvant retransmettre le virus rabique qu'à de rares exceptions, représentent un véritable cul de sac épidémiologique. 3,5% des cas de rage enregistrés sur presque douze ans appartiennent à l'espèce féline contre seulement 2,4% pour l'espèce canine. De plus, précisons que ces chiffres ne sont qu'un pâle reflet de la réalité, compte tenu du nombre considérable de cas non recensés pour les espèces sauvages ou apparentées comme l'espèce féline.

En effet, les chats représentent un maillon important de la chaîne épizootique en zone rurale. Libres de leurs mouvements, leurs divagations nocturnes les conduisent sur les mêmes terrains de chasse que les renards, les petits rongeurs constituant la base de la nourriture des deux espèces. Ils sont contaminés essentiellement par morsure de renard, exceptionnellement par ingestion de cadavres en période hivernale (3). Enfin, il semble d'après VAUGHN (4), qu'il n'existe pas de contamination intraspécifique. Sont susceptibles de cette contamination rabique :

1) Le chat véritablement sauvage : Felix Sylvestris, espèce bien définie, caractérisée par une queue cylindrique et rayée, quatre barres transversales sur le sommet de la tête et un poids supérieur à son congénère domestique .

2) Le chat domestique (Felix Catus) en divagation, défini comme suit dans l'A.R.P.P.C.*
Art. 4 :

"tout chat errant rencontré à plus de deux cent mètres d'une habitation est considéré comme chat-haret, c'est-à-dire chat revenu à l'état sauvage".

Ce dernier nous intéresse davantage à cause de la dualité de son comportement.

* A.R.P.P.C. : Arrêté Règlementaire Permanent de Police de la Chasse.

Par ailleurs, tout comme pour le renard, on a pu mettre en évidence une périodicité saisonnière de la rage féline. Les deux pics enregistrés l'un en janvier, l'autre en juillet-août dépendent respectivement des périodes de rut hivernal d'une part et de sevrage estival des renardeaux, d'autre part.

De l'étroitesse des relations entretenues par le chat à la fois avec le renard et avec l'homme, découle l'importance que revêt la vaccination dans la prophylaxie de la rage du chat.

E S P E C E S	N O M B R E d e C A S	P O U R C E N T A G E S
Renards	13 149	77,9
ANIMAUX		
Blaireaux	213	1,3
SAUVAGES		
Chevreuils	85	0,5
Autres espèces	268	1,6
Chiens	402	2,4
Chats	587	3,5
Bovins	1 621	9,6
Ovins-Caprins	390	2,3
Equins	107	0,6
Porcins	9	0,05
Autres espèces	2	0,01
ANIMAUX		
DOMESTIQUES		

TABEAU N° 1 : Cas de rage enregistrés en France pour la période du

26 Mars 1968 au 30 Novembre 1979

Centre d'études sur la rage de Malzeville.

Bulletin épidémiologique mensuel 1979 n° 11

C H A P I T R E 2

=====

Intérêt de la prophylaxie médicale
antirabique du chat.

Une action offensive de **réduction de la** densité de population vulpine d'une part, la vaccination des animaux domestiques couplée de mesures sanitaires défensives d'autre part, sont les deux volets essentiels du plan de prophylaxie antirabique actuel.

I - MESURES SANITAIRES GENERALES

=====

Par la loi du 3 janvier 1975 relative à la lutte contre la rage, les dispositions sanitaires prévues pour les chiens par l'article 213 du code rural ont été étendues et renforcées vis-à-vis des chats comblant ainsi une grave lacune de notre législation (5).

Les textes législatifs et réglementaires prévoient deux catégories de mesures, les unes applicables dans les départements déclarés atteints par la rage, les autres dans la partie encore indemne du territoire national, sans oublier certaines mesures aux frontières (6).

A - Régions indemnes

Ce sont des mesures permanentes de prévention.

1) Animal errant

C.R. Art. 213 - "les maires peuvent prendre toutes dispositions propres à empêcher la divagation des chiens et des chats. Ils peuvent ordonner que les chiens et les chats soient tenus en laisse ...

Ils prescrivent que les chiens et les chats errants et tous ceux qui seraient trouvés sur la voie

publique, dans les champs ou dans les bois, seront conduits à la fourrière et abattus si leur propriétaire reste inconnu et s'ils n'ont pas été réclamés par lui ; l'abattage est réalisé dès l'expiration d'un délai de quatre jours ouvrables et francs après la capture.

C.M. 11 Mars 1977 "ce délai est porté à huit jours pour les chiens et chats identifiés par le port d'un collier sur lequel figure le nom et le domicile de leur maître".

C.R. de la chasse, Art 393 relatif aux nuisibles. "Le Ministre de l'Agriculture, assisté du Conseil National de la chasse et de la faune sauvage, prend des arrêtés pour déterminer les espèces d'animaux malfaisants ou nuisibles que le propriétaire, possesseur ou fermier peut, en tout temps détruire sur ses terres et les conditions d'exercice de ce droit.

A.R.P.P.C. Art. 4 "Il est interdit de laisser divaguer les chats. Tout chat errant, rencontré à plus de deux cent mètres d'une habitation, sera considéré comme chat-haret (chat revenu à l'état sauvage) et pourra être détruit dans les mêmes conditions que les animaux nuisibles".

A.R.P.P.C. Art. 9 "sont considérés comme nuisibles ou malfaisants le chat sauvage, le chat haret etc. (autres nuisibles).

Les dispositions du code de la chasse jointes à celles relatives au chat domestique sont d'une grande rigueur et nous pouvons constater la coïncidence existant entre les impératifs sanitaires et cynégétiques (7).

Pour compléter ces dispositions tendant à contrôler ou à éliminer les chiens et les chats errants, les textes législatifs et réglementaires en vigueur prévoient notamment sur tout le territoire national :

2) Animal enragé
.....

- L'abattage immédiat des animaux de quelque espèce qu'ils soient sur lesquels la rage est constatée. (C.R. Art. 232 décret du 13.9.76 Art. 1er).

3) Animal contaminé
.....

- L'abattage des carnivores domestiques ayant été en contact avec un animal reconnu enragé, (avec toutefois une dérogation à cet abattage, accordée sous certaines conditions, pour les chiens valablement vaccinés contre la rage (C.R. art. 232 décret du 13.9.76 Art. 3, arrêté du 29.9.76).

B - Régions infestées

Ce sont des mesures permanentes renforcées.

1) Animal errant
.....

D 13.9.76 art. 8 * - "Dans les territoires couverts par un arrêté ministériel déclarant une zone atteinte par la rage, les chats même vaccinés doivent être enfermés ou tenus à l'attache".

(alors que les propriétaires ou détenteurs de chiens, peuvent les laisser circuler librement sous leur surveillance directe à condition d'être en mesure de présenter à toute réquisition un certificat de vaccination antirabique valablement établi et en cours de validité).

* décret n° 76.8.67 du 13.9.76 relatif à la lutte contre la rage.

- "les chiens et les chats errants sont capturés et transportés en fourrière à la diligence du maire. Les chats sont abattus immédiatement".

(et les chiens après un délai de 48 heures au cours duquel ils peuvent être restitués à leur propriétaire sur présentation d'un certificat de vaccination antirabique).

C.R. ART. 232.2 - "les chiens et les chats errants dont la capture est impossible ou dangereuse sont abattus sur place par les agents de la force publique, les lieutenants de louveterie, les agents assermentés chargés de la police de la chasse ou toute personne titulaire d'un permis de chasser à ce requis par le maire".

2) Animal enragé
.....

3) Animal contaminé
.....

Dans ces deux cas, les mesures sont les mêmes qu'en région indemne.

C - Mesures aux frontières : importation

Importation prohibée pour tous carnivores de tous pays (A.M. 2.11.57). En fait dérogation générale à la prohibition d'importation (avis J.O. 20.6.75).

- Chats de plus de trois mois

Certificat établi par un vétérinaire officiel du pays d'origine attestant la vaccination Rage et Leucopénie infectieuse depuis plus d'un mois et moins d'un an après primovaccination ou moins d'un an après rappel.

- Chats de plus d'un an

et accompagnant un voyageur : seul le certificat de vaccination antirabique est exigé.

- Chats provenant d'un pays indemne de rage

le certificat de vaccination antirabique peut être remplacé par un certificat de santé, établi par un vétérinaire officiel dans les cinq jours avant le départ et attestant que l'animal :

- est en bonne santé
- provient d'un pays indemne depuis trois ans au moins
- a séjourné dans ce pays depuis six mois au moins ou depuis sa naissance.

Dérogation spéciale sur demande pour chats de moins de trois mois.

La particulière sévérité des mesures encourues par le chat : obligation d'enfermer ou d'attacher les chats même vaccinés et abattage immédiat des chats errants en zone infectée d'une part, non dérogation à cet abattage en cas de contact d'un chat vacciné avec un animal enragé d'autre part, découle du rôle important joué par les félins dans l'épizootiologie de la rage, que nous avons évoqué précédemment. La diminution du nombre de cas de rage enregistrés de 1978 à 1979 dans l'espèce féline (- 15%) (cf. tableau 2), est probablement le résultat direct de la stricte application des mesures prophylactiques décrites ci-dessus, mais ne doit pas pour autant inciter à un relâchement prématuré de celles-ci,

Esèces Années	Renards	Blaireaux	Chevreuils	Mustélidés	Chiens	Chats	Bovins	Ovins	Equins	Total toutes espèces réunies
1978	931	10	11	20	40	46	102	34	6	1 200
1979	1 351	15	18	28	49	39	131	59	15	1 705
Différence en + ou en -	+ 45 p. 100	+ 50 p. 100	+ 64 p. 100	+ 40 p. 100	+ 23 p. 100	- 15 p. 100	+ 28 p. 100	+ 74 p. 100	+ 150 p. 100	+ 42 p. 100

TABLEAU N° 2 : Evolution, par espèce, des cas de rage enregistrés
de 1978 à 1979.
(Bulletin épidémiologique mensuel du Centre National
d'Etudes sur la Rage - Nancy).

II - AVANTAGES ET LIMITES DE LA VACCINATION

=====

A l'heure où la vaccination du renard, malgré les espoirs qu'elle suscite, reste irréalisable en raison de nombreux obstacles matériels, financiers, scientifiques et écologiques, celle des animaux domestiques et en particulier celle du chat est légitimée par plusieurs raisons (8).

- Impossible contrôle du contagion sauvage qui exclut toute prophylaxie sanitaire isolément instituée.

- Absence d'incompatibilité entre la vaccination d'une part et le dépistage de la maladie d'autre part, qui ne réclame aucun test sérologique.

- et surtout, en dépit de la discrétion de l'incidence économique de la rage, chez les animaux domestiques, une protection immunitaire de ceux-ci est essentielle dans le dessein d'éviter à l'homme la contamination d'une zoonose mortelle (9).

Malheureusement, la vaccination antirabique du chat a aussi ses limites.

L'explosion "démographique" quasi permanente qui caractérise l'espèce féline et l'état de semi-domesticité de la plupart des chats qui entraîne des difficultés de recensement et de capture pour leurs propriétaires, constituent deux obstacles importants à la vaccination : l'un financier (un trop grand nombre de chats à vacciner par foyer), l'autre d'ordre pratique. C'est ainsi que l'on a pu assister,

lors de la déclaration d'infection du département de l'Isère en août 1979 à une élimination massive de chats par leurs propriétaires dans le seul but d'éviter le coût de la vaccination antirabique déclarée abusivement obligatoire dans certains villages.

Mais l'absence de mesures conservatoires est aussi une cause majeure de la faible portée de la vaccination antirabique du chat, en ce sens qu'elle supprime toute incitation à cette vaccination susceptible de contrebalancer son caractère onéreux.

En effet les vaccinations d'obligation ou d'incitation opérées à titre onéreux par les particuliers représentent 94% du budget annuel de la prophylaxie de la rage qui s'élève à 18 milliards de centimes. (L'état prend en charge les 6% restants soit 16 fois moins) (9).

Il est évident que l'éventualité d'une vaccination systématique obligatoire est exclue, aussi longtemps que cette dernière restera aux frais du propriétaire de l'animal concerné.

Ainsi, alors que l'existence de contaminations occultes dangereuses pour l'homme constitue une incitation générale à la vaccination antirabique du chat, par ailleurs le caractère onéreux de la vaccination, l'absence de mesures conservatoires à l'encontre des chats vaccinés contaminés et l'absence également de conservation en cas de capture de chats errants s'opposent triplement à cette vaccination.

C H A P I T R E I I I

=====

Règlementation de la vaccination antirabique
du chat.

Arrêté du 30 Novembre 1976 :

Conditions et modalités de la vaccination
antirabique des animaux domestiques.

I - MODALITES DE LA VACCINATION

=====

a) Le vaccin

Art. 2 - "Seul un vaccin à virus inactivé officiellement agréé par le ministère de l'Agriculture peut être utilisé pour la réalisation de cette vaccination".

b) La vaccination

Arrêté du 21 mai 1979 relatif à la modification de l'arrêté du 30 novembre 1976 : "la vaccination antirabique des carnivores domestiques est pratiquée à partir de l'âge de trois mois".

- "La première vaccination, dite primovaccination, comporte deux injections à quinze jours au moins et trente jours au plus d'intervalle.

- Les vaccinations suivantes, dites de rappel, nécessitent une seule injection à un an d'intervalle.

- Ne sont pas considérées comme vaccinations de rappel, mais comme primovaccinations, les vaccinations pratiquées plus d'une année après la deuxième injection faite lors d'une primovaccination ou après la vaccination de rappel précédente".

c) Certificats

Art. 3 - "La vaccination antirabique des carnivores domestiques ou son rappel sont attestés par la délivrance d'un certificat conforme, selon le cas, à l'un des deux modèles définis par l'annexe au présent arrêté.

- Les certificats de vaccination antirabique de couleur blanche sont détachés d'un carnet duplicata de cinquante feuillets numérotés.

- Les certificats de vaccination antirabique de rappel de couleur rose sont détachés d'un carnet duplicata de cinquante feuillets numérotés.

- Les dimensions et la présentation de ces carnets d'un modèle unique pour l'ensemble du territoire sont définies par le ministre de l'Agriculture".

d) Validité

- Après primovaccination

Généralement plus d'un mois et moins d'un an après deuxième injection (A.M. 29.9.76 ; avis importateurs J.O. 20.06.75).

Parfois plus de quinze jours (chat présenté dans un concours ou une exposition dans un département atteint : C.M. 22.5.78).

- Après rappel

Moins d'un an.

II - PERSONNES HABILITEES

=====

Art. 1 - La vaccination des animaux domestiques contre la rage ne peut être effectuée que par les vétérinaires ou docteurs vétérinaires exerçant leur profession conformément aux dispositions de l'article 309 du code rural et par les anciens élèves des écoles Nationales Vétérinaires autorisés à exercer la médecine et la chirurgie des animaux dans les conditions prévues aux articles 309.2 à 309.8 du code rural".
(A.M. 30.11.76).

L'inscription au Conseil de l'Ordre est indispensable pour commander les carnets de certificats de vaccination antirabique (C.M. 15.2.77).

III - CIRCONSTANCES

=====

a) Obligatoire

- Par arrêté ministériel, chez certains animaux et dans certains territoires (exemple : bovins, chiens et chats du département de l'Oise pour une durée d'un an, A.M. 23.01.78).
Ce type d'arrêté reste exceptionnel.

- Chat introduit en Corse (A.M. 14.6.76) :
rq : chien également.

- Chat (ou chien) accompagnant un touriste et venant ou revenant en France (Avis aux importateurs du 7 juin 1975).

- chat (ou chien) présenté dans un concours ou une exposition en zone infectée (C.M. 22.5.78) ou provenant d'un département infecté et présenté à un concours ou une exposition en zone indemne.

b) Facultative, d'incitation

A la diligence du propriétaire.

Cette analyse succincte démontre la primordialité de la prophylaxie sanitaire dans la lutte antirabique chez le chat dans la mesure où la vaccination est de toutes les façons fort limitée.

DEUXIÈME PARTIE

=====

RECHERCHES PERSONNELLES :

Contrôle sérologique en séroneutralisation
de l'immunité antirabique du chat

Comparaison de deux méthodes.

PRINCIPE

=====

Nous nous proposons dans un premier temps d'étudier et d'apprécier l'immunité conférée par la vaccination en nous attachant tout particulièrement à l'évolution des titres en anticorps au cours du temps et à leur variation en fonction du type de vaccin utilisé. Ceci à travers deux méthodes sérologiques : la séroneutralisation sur souris et la méthode des plages dont nous comparerons les caractéristiques dans un deuxième temps. *

Ces deux techniques utilisent les propriétés neutralisantes du sérum étudié ; la première in vivo par inoculation à la souris, la seconde in vitro sur culture cellulaire. Toutes deux sont couramment employées en sérodiagnostic.

Une interprétation statistique selon une analyse de corrélation simple et l'obtention en double aveugle des deux séries de résultats garantissent l'objectivité de cette étude.

* La méthode de séroneutralisation sur souris a été réalisée par l'IFFA MERIEUX.

La méthode des plages, à l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON.

C H A P I T R E I

=====

MATERIEL - METHODES - TECHNIQUES

I - MATERIEL COMMUN

=====

a) Chats

Nous disposons de huit chatons virus-free de deux à trois mois provenant de l'élevage de l'institut Mérieux (10).

b) Vaccins (11)

Une seule injection en sous cutanée est pratiquée.

Trois vaccins différents sont utilisés, ce sont :

. "RABIFFA" : vaccin du commerce couramment employé, il est produit à partir de virus de culture cellulaire titrant au minimum $10^{6,3}$ DL 50 sur souris par ml, inactivé par la bêta-propiolactone puis lyophilisé.

. "FELINIFFA-R" : il s'agit du vaccin précédent associé à une valence Panleucopénie infectieuse.

. "RABISIN" : pourvu des mêmes caractéristiques que le RABIFFA, il en diffère sur deux points : c'est un vaccin liquide et surtout adjuvé à l'hydroxyde d'alumine (à raison de 125 mg/dose) dont le rôle de stabilisateur permet une meilleure réponse immunitaire. Commercialisé en Belgique et en Allemagne, il est utilisé au rythme d'un rappel tous les deux ans seulement (12).

N.B. ; les chats vaccinés au "RABIFFA" et au "RABISIN" l'ont été aussi par ailleurs à l'aide du "FELINIFFA" contre la panleucopénie infectieuse,

c) Sérums

Ils sont issus de prises de sang effectuées à intervalles réguliers sur une période de deux ans après l'injection vaccinale. Nous disposons ainsi de trois repères : PS 1 mois, PS 12 mois, PS 24 mois, en plus de la prise de sang témoin PS₀ faite le jour de l'injection.

Ils sont extraits du sang après repos de celui-ci, centrifugés, décomplémentés et enfin congelés à -30° C.

II - METHODES

=====

A - In vivo : SERONEUTRALISATION SUR SOURIS

1) Principe (13)

Elle consiste à mettre en contact différentes dilutions du sérum à tester avec une quantité déterminée d'un virus fixe connu ("Challenge Virus Standard = CVS") capable de tuer toutes les souris auxquelles elle est administrée par voie intracérébrale.

Les sérums ayant effectivement un pouvoir séroneutralisant après un contact de 90 minutes avec le virus, peuvent le rendre avirulent pour les souris qui le reçoivent.

Cette propriété est plus ou moins marquée à proportion de la dilution à laquelle on peut encore observer ses effets. C'est pourquoi on détermine le "titre" d'un sérum par la dilution limite à laquelle il peut encore protéger 50% des souris contre une dose de virus sûrement mortelle si elle avait été inoculée sans contact préalable avec le sérum.

2) Matériel spécifique

a) souris

On utilise des souris pesant 14 à 16 grammes à raison de 5 souris par dilution de sérum.

b) Virus d'épreuve

Il s'agit du virus souche CVS titrant 100 DL 50/0,03 ml conservé sous forme d'une suspension à 20% répartie en ampoules et congelée à basse température.

c) Sérum de référence

Sérum de cheval hyper-immun, lyophilisé, titrant 42 UI/0,5 ml.

3) Technique (14)

a) Inactivation

Les sérums de chats à éprouver sont inactivés pendant 30 mn à 56° C.

b) Neutralisation

On prépare les dilutions en série des sérums à éprouver et du sérum de référence : 1/5, 1/25, 1/125 ... Puis à 0,5 ml de chaque dilution est ajouté dans le même tube 0,5 ml de virus renfermant 100 DL 50.

c) Titrage du témoin virus

Il est indispensable de déterminer la quantité effective de virus utilisée dans la réaction. A cette fin on mélange 0,5 ml de virus d'épreuve avec 0,5 ml de diluant contenant 20% de sérum équin normal inactivé et l'on prépare 3 dilutions de raison 10.

d) Inoculation à la souris

Après une heure et demi d'incubation à 37° C, on place tous les tubes dans un bac rempli d'eau glacée et l'on inocule les souris par voie intra-cérébrale à raison de 0,03 ml par animal et de 5 souris par dilution. Les divers groupes d'animaux, placés séparément dans des bocalx étiquetés, sont ensuite mis en observation et l'on note le nombre de souris qui meurent entre le 6e et le 20e jour.

e) Calcul et interprétation des résultats
.....

Le titre de chaque sérum est déterminé par la dilution pour laquelle 50% des souris sont encore vivantes.

Les calculs seront faits selon la formule et les tableaux de la méthode de SPEARMAN-KARBER (15).

Cette forme d'expression du titre implique obligatoirement la mention de la dose de virus neutralisée. Ceci peut être simplifié en effectuant la comparaison du pouvoir neutralisant de chaque sérum avec celui du sérum de référence élaboré par rapport à l'étalon international titrant arbitrairement 80 UI/ml.

B - In vitro : METHODE DES PLAGES

Décrite par Wiktor (16), modifiée par Bijlenga et Joubert (1).

1) Principe

Elle utilise le pouvoir cytopathogène du virus rabique formateur de zones de lyse ou "plages" sur couche monocellulaire, proportionnellement à la dose infectante (13).

Par son pouvoir neutralisant le sérum étudié entraîne une réduction du nombre de ces plages et son titre est alors exprimé par la dilution correspondant à 50% de réduction.

La lecture sera facilitée par une coloration différentielle au rouge neutre, les cellules infectées ayant perdu leur capacité d'absorption des colorants vitaux (18).

2) Matériel spécifique (18)

a) Système cellulaire
.....

Lignée BHK 21, 13 S (MAC PHERSON et STOKER) stockée en azote liquide et utilisée entre les 19° et 28° subcultures en couche monocellulaire.

b) virus de référence
.....

Souche de virus rabique atténué HEP, adaptée à la culture cellulaire et formatrice de plages, ayant subi trois clonages successifs par sélection de plages, suivis d'un contrôle du maintien des caractères spécifiques (souche WIKTOR remise par l'IFFA).

Un stock de ce virus a été préparé sur culture cellulaire, titré (10^4 UFP/ml environ), réparti en ampoules de 1 ml et conservé à -70° C.

c) sérum étalon de référence
.....

Sérum de cheval hyper immunisé à l'aide du vaccin "RABIFFA" préparé par le laboratoire de l'Institut Mérieux, décomplémenté et cryodesséché. Sa reconstitution à l'aide de 0,5 ml d'eau déminéralisée et bidistillée fournit 60 UI/0,5 ml. Sa conservation est assurée à +4° C.

3) Technique (18)

a) Cellules

On multiplie les cellules dans des boîtes de Roux en les laissant incuber trois jours à 36° C.

b) Supports

Il est constitué par une solution mère d'agarose stérile mélangée à un milieu adéquat et répartie en boîtes de Pétri avant solidification, en disposition strictement horizontale.

c) Trypsination et numération

Après trypsination et neutralisation de chaque culture de cellules, on effectue une numération afin d'ajuster la concentration à une valeur comprise entre 4 et 5.10^6 cellules/ml. Puis on répartit 0,5 ml de suspension cellulaire dans les boîtes de 35 mm de diamètre qui sont placées après solidification en étuve à CO₂ pendant une durée variant de 2 à 24 heures avant l'inoculation.

d) Inoculation

Après avoir préparé :

1 - des dilutions de deux en deux des sérums à expertiser et du sérum de référence.

2 - une dilution à 1/10e de sérum foetal bovin considéré comme témoin d'un sérum négatif.

3 - un tube de milieu seul, considéré comme témoin virus.

On ajoute à chaque tube un volume égal d'une dilution au $1/200^{\circ}$ du stock de virus. Il contient alors une suspension virale de 40 UFP pour 0,1 ml.

L'ensemble est mis à incuber une heure à 36° C, puis on procède à l'inoculation de deux boîtes de Pétri par tube, à raison de 0,1 ml réparti soigneusement à la surface de chaque boîte. Les suspensions cellulaires infectées retournent à l'étuve à CO_2 pendant six jours.

e) Coloration-lecture-interprétation.

Après coloration au rouge neutre, solidification et incubation deux heures en étuve à CO_2 , la lecture s'opère en lumière verte par comptage du nombre de plages sur chacune des boîtes.

Le nombre moyen de plages dans les préparations témoins permet de déterminer le point 50% de réduction.

La dilution de chaque sérum correspondant à ce point est déterminée graphiquement selon la méthode préconisée par l'O.M.S. Les résultats sont exprimés en Unités Internationales par ml par comparaison avec le sérum étalon de référence.

C H A P I T R E I I

=====

Résultats, analyse et interprétation
statistiques.

TABEAU I - *Titres en anticorps obtenus par la
méthode des plages,*

Numéro du sérum	Inverse de la dilution	10g dilution	Titres en Ac (UI)
7759	57	1,76	0,30
7763	74	1,87	0,39
7765	1 072	3,03	5,70
7768	520	2,70	2,77
7785	1 216	3,08	6,47
7786	1 300	3,14	6,90
7755	744	2,87	3,96
7759	224	2,35	1,19
7763	256	2,41	1,36
7765	222	2,35	1,18
7785	984	2,99	5,23
7786	200	2,30	1,06
7755	38	1,58	0,20
7759	70	1,85	0,37
7763	95	1,98	0,51
7768	27	1,43	0,14
7782	372	2,57	1,98
7785	276	2,44	1,47

TABLEAU II - *Titres en anticorps obtenus par la séroneutralisation sur souris.*

Numéro du sérum	Inverse de la dilution	10g dilution	Titres en Ac (UI)
7759	3,5	0,55	0,075
7763	61	1,78	3,83
7765	56,3	1,75	1,18
7768	224	2,35	4,71
7785	502	2,7	10,55
7786	502	2,7	10,55
7755	14,5	1,16	0,30
7759	1,63	0,21	0,10
7763	10	1,01	0,22
7765	1,87	0,27	0,12
7785	182	2,26	3,83
7786	56,2	1,75	1,18
7755	8	0,9	0,50
7759	0	0	0
7763	24	1,38	0,64
7768	6	0,78	0,38
7782	276	2,44	7,30
7785	89	1,95	2,36

TABLEAU III - *Comparaison des titres en anticorps
obtenus selon la nature du vaccin.*

Numéro du sérum	Nature du vaccin	Titre en Ac M.P.*	Titre en Ac S.N.S.*
7759 1 mois	RABIFFA	0,30	0,075
7755 12 mois		3,96	0,30
7759 12 mois		1,19	0,10
7755 24 mois		0,20	0,50
7759 24 mois		0,37	0
7763 1 mois	FELINIFFA R	0,39	3,83
7765 1 mois		5,70	1,18
7768 1 mois		2,77	4,71
7763 12 mois		1,36	0,22
7765 12 mois		1,18	0,12
7763 24 mois		0,51	0,64
7768 24 mois		0,14	0,38
7785 1 mois	RABISIN	6,47	10,55
7786 1 mois		6,90	10,55
7785 12 mois		5,23	3,83
7786 12 mois		1,06	1,18
7782 24 mois		1,98	7,30
7785 24 mois		1,47	2,36

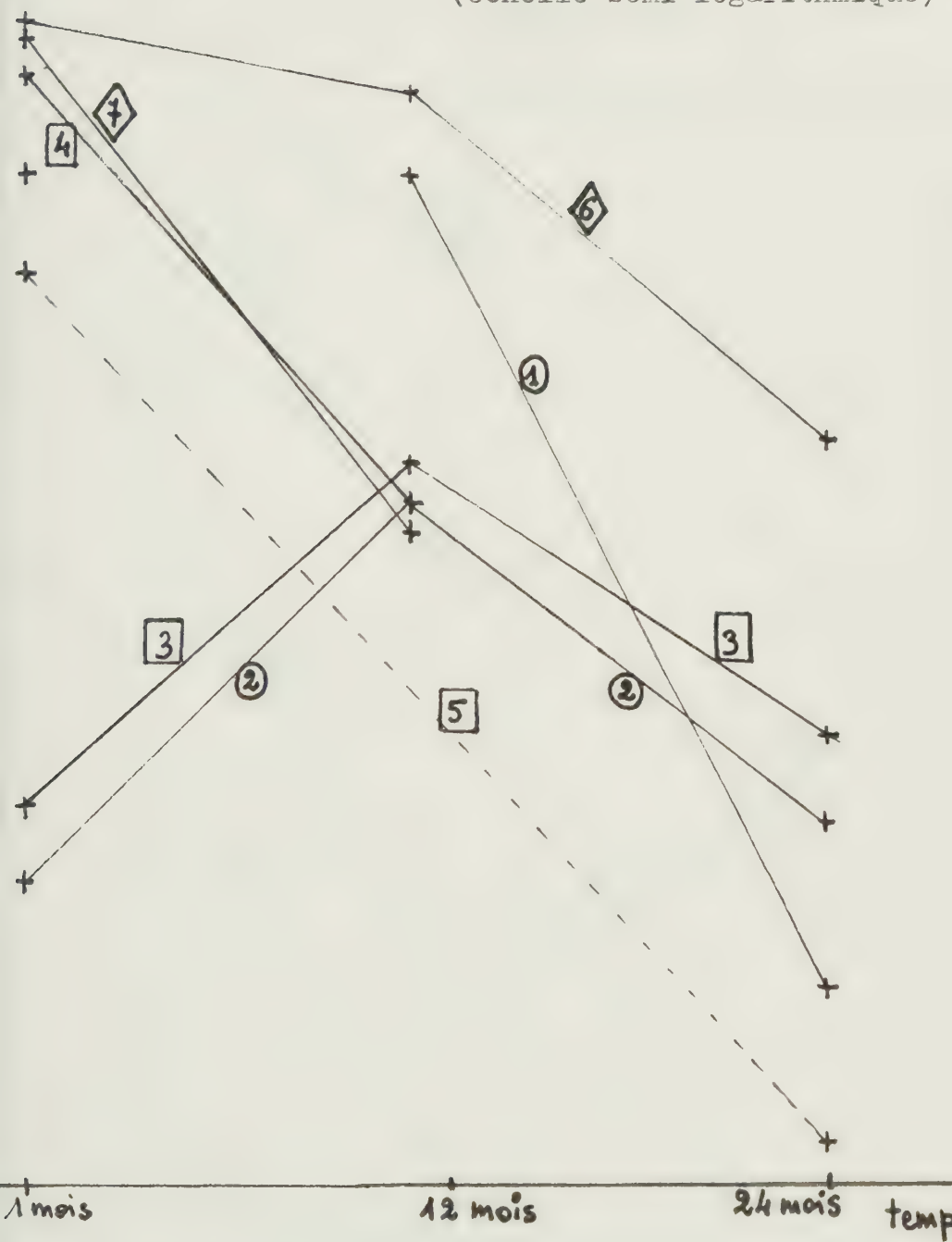
* MP = méthode des plaques

* S.N.S. = séroneutralisation sur souris

TABLEAU 4bis : CINETIQUE

Méthode des plages.

(échelle semi-logarithmique)



○ : "RABIFFA"
 □ : "FELINIFFA-R"
 ◇ : "RABISIN"

TABLEAU 4 ter; CINETIQUE.

Séroneutralisation sur
souris.

(échelle semi-logarithmique)

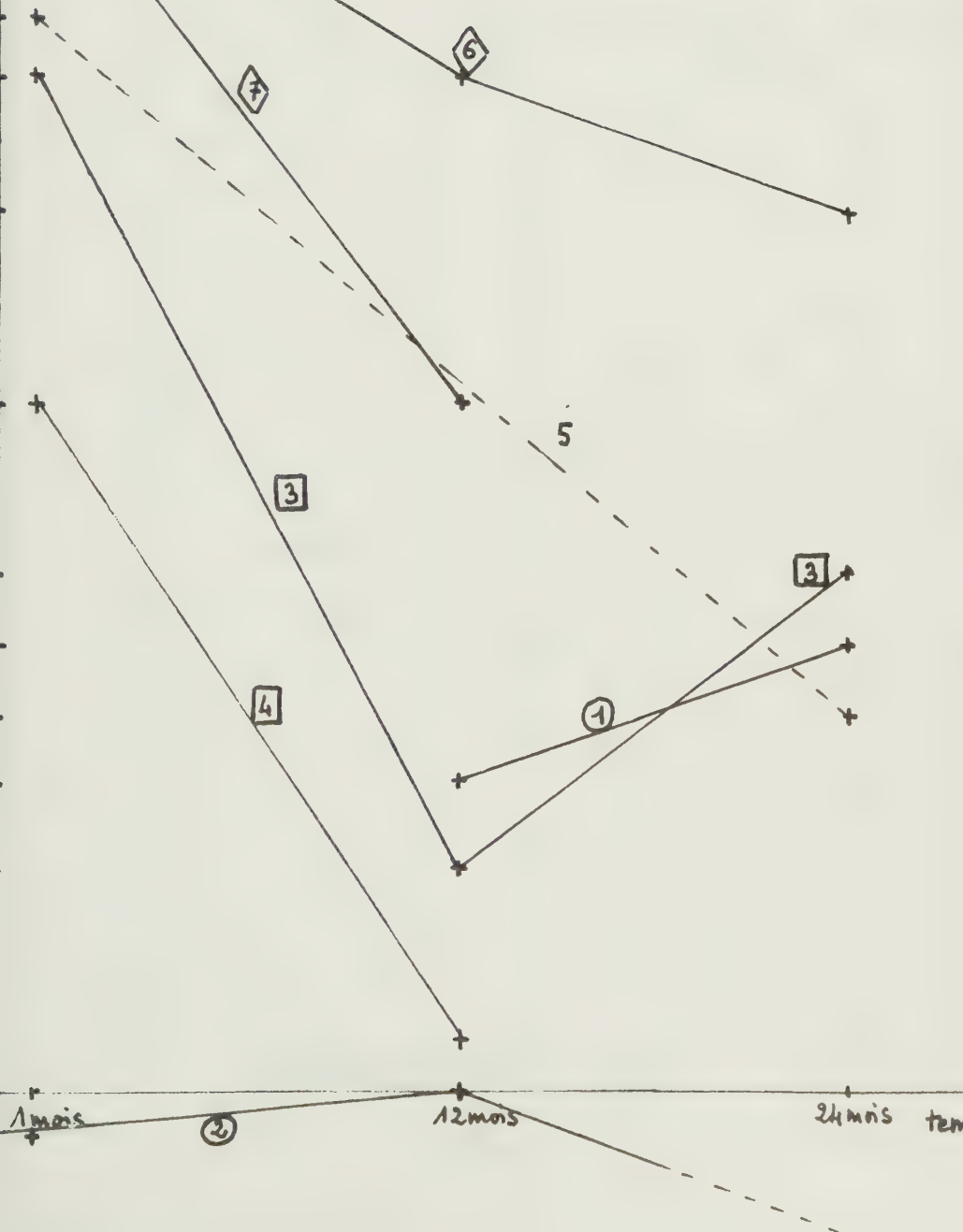


TABLEAU IV - Cinétique des titres en anticorps

Numéro du sérum	P.S. 1 mois	P.S. 12 mois	P.S. 24 mois
7755 n° 1		3,96	0,20
7759 n° 2	0,30	1,19	0,37
7763 n° 3	0,39	1,36	0,51
7765 n° 4	5,70	1,18	
7768 n° 5	2,77		0,14
7785 n° 6	6,47	5,23	1,47
7786 n° 7	6,90	1,06	
7782			1,98
Moyenne	MP1 = 3,75	MP2 = 2,33	MP3 = 0,78

METHODE DES PLAGES

Moyenne	MS1 = 5,15	MS2 = 0,96	MS3 = 1,86
7755 n° 1		0,30	0,50
7759 n° 2	0,075	0,10	0
7763 n° 3	3,83	0,22	0,64
7765 n° 4	1,18	0,12	
7768 n° 5	4,71		0,38
7785 n° 6	10,55	3,83	2,36
7786 n° 7	10,55	1,18	
7782			7,30

SERONEUTRALISATION SUR SOURIS

TABEAU V - *Comparaison des titres en anticorps
obtenus par les deux méthodes.*

Numéro du sérum	Titre en Ac M.P (UI)	Titre en Ac S.N.S (UI)	délai après vaccination
7759	0,30	0,075	1 mois
7763	0,39	3,83	
7765	5,70	1,18	
7768	2,77	4,71	
7785	6,47	10,55	
7786	6,9	10,55	
7755	3,96	0,30	12 mois
7759	1,19	0,10	
7763	1,36	0,22	
7765	1,18	0,12	
7785	5,23	3,83	
7786	1,06	1,18	
7755	0,20	0,50	24 mois
7759	0,37	0	
7763	0,51	0,64	
7768	0,14	0,38	
7782	1,98	7,30	
7785	1,47	2,36	

Dans les tableaux I et II sont regroupés les titres en anticorps obtenus par la méthode des plages (tableau I) et par inoculation à la souris (tableau II), ainsi que les dilutions qui leur correspondent,

I - APPRECIATION DE L'IMMUNITE HUMORALE POST-VACCINALE
=====

1) En valeur absolue

D'après le tableau A ci-dessous, nous remarquons tout d'abord une grande diversité de réponse à la sollicitation vaccinale avec un écart élevé entre les valeurs extrêmes.

	Temps	1 mois	12 mois	24 mois
S.N.S.	minimum	0,075	0,1	0
	maximum	10,55	3,83	7,30
	écart	10,47	3,73	7,30
	moyenne 8 sérums	5,15	0,96	1,86
M.P.	minimum	0,30	1,06	0,14
	maximum	6,9	5,23	1,98
	écart	6,6	4,17	1,84
	moyenne 8 sérums	2,75	2,33	0,78

TABLEAU A

Par ailleurs, d'après J.M. SCLAVON, G. BIJJENGA et L. JOUBERT (19), l'appréciation des titres en UI obtenus par la méthode des plages s'effectue de la façon suivante :

- les titres inférieurs ou égaux à 0,1 UI sont considérés comme négatifs.
- le seuil de séroconversion effective n'est atteint que pour des titres égaux ou supérieurs à 1 UI.

En séroneutralisation sur souris, le seuil de négativité est également fixé à 0,1 UI à l'exclusion de toute autre considération.

Il en ressort que :

- 1°) aucun sérum n'est franchement négatif en méthode des plages, 16,5% le sont en séroneutralisation sur souris.
- 2°) la séroconversion est obtenue dans 66,6% des cas en méthode des plages.
- 3°) 30% des sérums étudiés donnent un titre largement positif car supérieur à 2,5 UI dans les deux méthodes.

2) en fonction de la nature du vaccin

	P L A G E S			S. N. S.		
	1 mois	12 mois	24 mois	1 mois	12 mois	24 mois
RABIFFA	0,3	2,17	0,27	0,07	0,17	0,1
FELINIFFA-R	1,82	1,26	0,27	2,77	0,16	0,49
RABISIN	6,68	2,35	1,70	10,55	1,92	4,15

TABLEAU B

Moyennes géométriques des titres UI selon la nature du vaccin et en fonction du temps
(se reporter au tableau n° III).

L'insuffisance du nombre de points ne permet malheureusement pas l'exploitation statistique de ces résultats. L'interprétation de ce tableau ne peut être faite qu'à titre indicatif,

Néanmoins nous pouvons constater :

- 1) Une nette similitude des résultats obtenus d'une part avec le "Rabiffa" et d'autre part avec le "Feliniffa" R, les valeurs moyennes étant toutes comprises entre 0,07 et 2,77 UI.
- 2) Une supériorité certaine pour le "Rabisin" avec des valeurs s'étageant de 1,92 à 10,55 UI.

3) Cinétique

D'autre part si l'on considère les résultats d'un point de vue cinétique (tableau IV), il est évident que la chute du taux d'anticorps au bout d'un an est assez brutale, davantage en SNS* (Ms1 = 5,15 Ms2 = 0,96) qu'en MP* (Mp1 = 3,75 Mp2 = 2,33) et en deux ans les titres ont encore diminués (Mp3 = 0,78 Ms3 = 1,86) inversement davantage en MP qu'en SNS, sans toutefois se négativer complètement.

II - COMPARAISON DES DEUX METHODES SEROLOGIQUES

=====

Dans le tableau V nous pouvons comparer directement les valeurs en unités internationales selon les deux méthodes utilisées,

* M.P. = méthode des plages
* S.N.S. = séroneutralisation sur souris

Nous remarquons que sur le lot total, cinq sérums obtiennent des résultats apparemment contradictoires : quatre d'entre d'eux dépassent le seuil de séroconversion de 1 UI en méthode des plages et sont largement inférieurs à cette valeur en séroneutralisation sur souris. Il s'agit des n° 7755, 7759, 7763 et 7765 12 mois. Inversement le cinquième sérum n° 7763 1 mois obtient un meilleur taux en séroneutralisation sur souris qu'en méthode des plages, Mais par ailleurs les autres résultats semblent assez homogènes. Nous trouvons en effet une forte positivité pour certains sérums : n° 7785 et 7786 1 mois, ou une forte négativité pour d'autres : n° 7755, 7759, 7763 et 7768 24 mois, à la fois dans l'une et l'autre méthode.

Compte tenu de la différence de sensibilité des méthodes, la méthode des plages étant en effet beaucoup plus sensible, nous pouvons conclure à une certaine concordance des résultats, confirmée par l'analyse statistique effectuée.

Il s'agit d'une analyse de corrélation simple sur le logarithme décimal des titres en anticorps exprimés en unités internationales.

$Y = \text{in vitro} = F(X = \text{in vivo})$, l'équation de la droite de corrélation étant $Y = 1,32X + 0,39$ avec un coefficient de corrélation de 0,56.

Il en ressort que le test est significatif à 2% avec 17 ddl (degrés de liberté).

A partir de la droite de corrélation, connaissant le titre S.N.S.* , nous pouvons donc déduire le titre M.P.* le plus probable et inversement, l'erreur sur ce point estimé est alors de huit fois sa valeur de part et d'autre de la droite au risque 5%.

D'autre part, la corrélation semble meilleure, avec une erreur sur le point estimé plus petite pour des titres supérieurs à 1 UI,

C H A P I T R E I I I

=====

Discussion

Une première étude portant sur une centaine de sérums de chats vaccinés avait été entreprise à l'école Nationale Vétérinaire de Lyon, selon la méthode des plages en micro-technique, mise au point par G. BIJJENGA et L. JOUBERT,

Pour des raisons techniques, nous avons été contraints d'y renoncer en faveur de la méthode des plages classique. Malheureusement, il n'a pas été possible de réitérer les épreuves sur la totalité des sérums, les quantités étant devenues insuffisantes,

I - MATERIEL

=====

A) Chats

Il aurait été souhaitable que, sur le plan qualitatif, cette étude fût effectuée, outre sur des chats de laboratoire, virus-free, sur des chats du "tout-venant" afin de se placer dans les mêmes conditions de vaccination antirabique qu'en pratique vétérinaire courante de routine. Sur le plan quantitatif, un nombre beaucoup plus important de sujets aurait été également préférable.

Nous disposions en effet d'un lot homogène, artificiel et insuffisant ; dix-huit sérums sérums seulement provenant d'un total de huit chats ont pu être éprouvés.

Des impératifs d'ordre pratique et financier ne l'ont pas permis.

B) Virus

L'utilisation de deux souches virales différentes ; C.V.S. en séroneutralisation sur souris et Flury H.E.P. en méthode des plages introduit un certain élément de discordance dans la comparaison des résultats obtenus.

En effet, non seulement des différences antigéniques importantes entre les diverses souches virales ont été mises en évidence (glycoprotéines différentes), mais d'après les recherches actuelles en cours (notamment sur les hybridomes (20)), il semblerait que le virus des rues soit constitué en réalité d'un mélange de virions.

C) Sérums

L'utilisation de deux sérums de référence de même espèce (cheval) et de titres voisins est par contre un élément de fiabilité supplémentaire de la comparaison opérée entre les deux méthodes. L'adoption d'un sérum de référence étalon commun serait certainement encore préférable, sous réserve de spécifier les souches de virus utilisées pour l'hyperimmunisation des animaux.

II - RESULTATS

=====

A) Rôle du vaccin

1) association de plusieurs valences

Il n'apparaît aucune différence significative selon l'emploi d'une valence Rage isolée ou de

l'association Rage + Panleucopénie infectieuse.

Ni synergie, ni antagonisme ou tout du moins compétition entre les antigènes de diverses provenances n'ont pu être mis en évidence.

Ce résultat ne vient que confirmer les études déjà réalisées à ce sujet (21).

2) Influence de l'adjuvant

Les résultats obtenus permettent de conclure à une très nette supériorité du Rabisin : vaccin inactivé à l'hydroxyde d'alumine, et de confirmer l'importance de l'adjuvant dans la fabrication des vaccins inactivés pour l'obtention d'une meilleure réponse immunitaire. (22)

De tels vaccins sont utilisés actuellement en France ("Alurabiffa" et "Equirab" respectivement chez les bovins et les équidés) autorisant par leur haut pouvoir immunigène une primo-vaccination en une seule injection, dans le but de résoudre au mieux le problème économique posé par la vaccination antirabique.

Dans l'état actuel de la réglementation française concernant la vaccination antirabique des carnivores, l'utilité d'un vaccin tel que le "Rabisin" est discutable. En effet, il n'est pas souhaitable d'augmenter le risque potentiel de réactions de type allergique au point d'injection du fait de la multiplicité des injections en primo-vaccination comme en rappel, alors que les vaccins inactivés simples semblent donner satisfaction.

Par contre, une modification du calendrier vaccinal (primo-vaccination avec une seule injection et rappels annuels ou primo-vaccination avec deux injections et rappels tous les deux ou trois ans) légitimerait l'utilisation de ce vaccin adjuvé.

C'est pourquoi le "Rabisin", commercialisé à l'étranger, n'a pas encore fait l'objet d'une autorisation de mise sur le marché dans notre pays. En effet, il est inutile - et risqué quant à l'allergie - de multiplier les charges vaccinales qui ne modifient plus le plafond immunitaire maximal obtenu.

B) Degré d'immunité humorale obtenu

Il est certain que l'emploi exclusif de tests sérologiques ne permettent qu'une exploration partielle de l'immunité obtenue dont la composante cellulaire, encore mal connue, n'est pas à négliger. (23)

Néanmoins les anticorps neutralisants constituent la protection la plus efficace contre toute contamination naturelle, en s'opposant immédiatement, par neutralisation des virions, à la progression irréversible des particules virales dans l'organisme contaminé, par adsorption sur les ramifications des cellules nerveuses (phénomène de neuroprobasie).

L'existence d'une protection immunitaire effective dans plus de 60% des cas, un mois après la vaccination est assez satisfaisante, dans la mesure où une seule injection de vaccin avait été pratiquée.

Néanmoins, il apparaît une grande diversité de réponse à la même sollicitation vaccinale, reflet de l'importance de la variabilité de la réactivité individuelle, alors que nous disposions d'un lot homogène de chats de laboratoire. En vaccination dite de routine, sur des chats présentant un état général plus ou moins satisfaisant (déficiences d'origine alimentaire, pathologie classique) ces divergences ne peuvent être que considérablement accentuées,

Il en ressort l'absolue nécessité de la deuxième injection vaccinale de primovaccination, quinze à trente jours après la première qui seule permet l'harmonisation du titre en anticorps à un haut niveau et de façon prolongée. Seul l'emploi de vaccins adjuvés (déjà cités précédemment) permettrait de déroger à ce sévère protocole de vaccination.

De la même manière, la chute spectaculaire des titres en anticorps au cours du temps justifie l'importance du premier rappel annuel et des suivants, facteurs d'une puissante relance immunitaire, homogène et durable.

C'est pourquoi, en dépit de l'absence de l'obligation vaccinale antirabique chez le chat en département atteint, il serait préférable que, par incitation pour le chat, et par obligation pour le chien la primo-vaccination soit effectuée un an environ avant l'arrivée présumée du front rabique, c'est-à-dire au sein même des départements limitrophes des départements déclarés atteints.

C) Niveau immunitaire moyen et cinétique individuelle

La très récente et remarquable étude de Blancou, Aubert et Andral (24) sur 27 singes, 52 chiens, 45 bovins, 20 renards, et 49 hommes adultes ne comportait pas de chats ici étudiés et dont l'immunité antirabique humorale se comporte d'une manière similaire en accord avec cette étude.

a) Le niveau moyen exigible oscille entre 0,5 et 5 UI/ml. Or, les différences entre bons et mauvais réacteurs séparent :

- l'espèce, dans l'ordre croissant singe, homme, renard, chien, chat et bovin.

- l'individu, avec des divergences considérables de réactivité individuelle, non nivelables par l'emploi d'adjuvants.

b) La cinétique des anticorps exige une primovaccination en deux temps si l'adjuvant est exclu du vaccin, et surtout un rappel annuel particulièrement pour les espèces mauvaises réactrices.

D) Comparaison des deux méthodes sérologiques

Elle est résumée dans le tableau n° 3.

	IN VITRO	M.P.	IN VIVO	S.N.S.
VIRUS		H.E.P. mais possibilité d'adaptation souche sauvage		C.V.S. artificielle, inoculation intracérébrale artificielle"
SERUM DE REFERENCE		CHEVAL 60 UI/0,5 ml		CHEVAL 42 UI/0,5 ml
		possibilité, sérum		de référence commun
SENSIBILITE	+++		+	
PRECOCITE	++		+	
COUT	+		+++	
				(animalerie)
RAPIDITE		10 jours minimum environ		21 jours minimum environ

TABLEAU n° 3

Principales caractéristiques comparatives des méthodes de séro-neutralisations in vitro et in vivo.

1) Virus

En ce qui concerne la souche virale utilisée, la méthode des plages présente le grand avantage de pouvoir substituer à la souche H.E.P. une souche sauvage (préalablement adaptée à la culture cellulaire et formatrice de plages), permettant ainsi de se placer dans des conditions très proches de la contamination rabique "naturelle". Au contraire, la méthode de séroneutralisation sur souris exige l'emploi exclusif de la souche fixe C.V.S. artificielle et hyperneurotrope, inoculable exclusivement par voie intra-cérébrale. Cette dernière présente en outre une certaine pathogénicité résiduelle éventuellement dangereuse pour le manipulateur.

2) Sensibilité

La méthode des plages se révèle "la plus sensible dans la détection des anticorps précoces" (O.M.S. 18, p.11) sans séparation qualitative des immunoglobulines mises en jeu : IgG tardives et spécifiques, mercaptoéthanol résistantes et IgM précoces et peu spécifiques, mercapto-éthanol-sensibles. Son bas seuil de détectabilité met ainsi en évidence des inhibiteurs non spécifiques avant toute vaccination (19).

Sa facilité d'utilisation et les nombreux avantages énumérés ci-dessus font de la méthode des plages une technique de choix en "screening". La séroneutralisation sur souris, utilisée par de très nombreux laboratoires dans le monde, reste en partie pour cette raison la méthode fondamentale, constituant un "langage" commun.

Malgré l'existence d'une corrélation statistiquement significative entre les résultats obtenus par les deux méthodes, l'équation de transformation de ces résultats n'est utilisable qu'avec un risque d'erreurs élevé.

Il conviendrait d'affiner le protocole expérimental de chacune des deux techniques, dans le but d'obtenir une meilleure fiabilité de comparaison. L'utilisation d'un très grand nombre de sérums (1000 à 2000) à des dilutions plus serrées serait nécessaire. Aisément réalisable en méthode des plages, une telle étude reste onéreuse et compliquée en séroneutralisation sur souris.

CONCLUSIONS

=====

1/ La vaccination antirabique du chat revêt une importance considérable dans la protection de l'homme contre la rage, en raison du nombre élevé de chats contaminés (3,5% contre 2,4% pour le chien, du total des cas enregistrés en France), en accord avec les moeurs vagabondes et nocturnes de ce compétiteur alimentaire du renard (78% des cas).

2/ L'incitation à la vaccination vise les contaminations occultes subies par les animaux de cette espèce, mais se heurte à l'absence, d'une part d'obligation vaccinale en département atteint, d'autre part de mesures conservatoires pour cet animal, enfin de possibilité de conservation des chats errants vaccinés, ainsi qu'au coût élevé de la vaccination et de l'identification.

3/ Une étude de l'immunité humorale obtenue après primovaccination unique (une seule injection) de huit chats de laboratoire virus-free à l'aide de trois vaccins différents (valence antirabique avec ou sans adjuvant ou associée avec la valence anti-panleucopénie) a été appréciée en titres d'anticorps neutralisants comparativement grâce à deux méthodes : in vivo (séronéutralisation sur souris) et in vitro (réduction du nombre de plages en cultures cellulaires), les résultats exprimés dans les deux cas en Unités Internationales.

4/ Il en ressort, du moins pour les vaccins sans adjuvant, la nécessité du rappel vaccinal de primovaccination puis annuel, l'opportunité générale de l'emploi d'un adjuvant, l'indifférence de l'association de deux valences et, en stratégie prophylactique, l'intérêt d'une vaccination d'incitation en situation antefrontale, dans les départements menacés, limitrophes (en aval de l'enzootie rabique) des départements atteints.

5/ La confrontation des deux méthodes sérologiques, chacune nantie d'avantages et d'inconvénients paraît assez satisfaisante, hors différences statistiquement significatives, avec un coefficient de corrélation de 0,56, autorisant une conversion réciproque des résultats exprimés en Unités Internationales.

6/ Une étude parallèle plus approfondie de ces deux méthodes non exclusives mais complémentaires est à promouvoir, dans le dessein d'une amélioration technique et d'une meilleure sécurité de translation de l'une à l'autre.

Vu :

LE DIRECTEUR

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon

[Signature]

[Signature]

LE DOYEN,

LE PROFESSEUR RESPONSABLE
de l'École Nationale Vétérinaire,

[Signature]

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

[Signature]

Vu et permis d'imprimer.....

3 AVR. 1980

LYON, le 19

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ LYON I



- BIBLIOGRAPHIE -

- 1 - NOCARD
Diagnostic clinique : rage des animaux domestiques
Cours Alfort an. 1891-1892
La rage, Inf. Tech. Serv. Vét., n° 64 à 67, 3e
Trim. 1979, p. 81-92.
- 2 - TOMA B. et ANDRAL L.
Epidémiologie de la rage vulpine.
La rage, Inf. Tech. Serv. Vét., n° 64 à 67,
3e trim. 1979, p. 57-69.
- 3 - STELLMANN C. et BERANGER G.
Epizootiologie de la rage en France de 1968 à
1972 selon un modèle biomathématique.
Rev. Méd. Vét., 125, (1), 1974, p. 45-62.
- 4 - VAUGHN J.B.
Cat rabies
The natural history of rabies, vol. II, BAER G.M.
Ed. Acad. Press, 1975, p. 139-154 (livre pathologie
n° 156/2)
- 5 - LIGNIERES R.
La rage du chat.
L'animal de compagnie, 5, 1977, p. 551-555 (revue).
- 6 - LIGNIERES R.
Prophylaxie de la rage animale : organisation
générale en France.
La rage, Inf. Tech. Serv. Vét., n° 64 à 67,
3e trim. 1979, p. 103-111.
- 7 - DESCOTES G.
Règlementation sanitaire actuelle de la rage
en France.
Commentaires.
Thèse Doctorat vétérinaire, Lyon 1977.

- 8 - JOUBERT L, et PRAVE M,
Vaccins antirabiques et vaccination des animaux.
La rage, Inf. Tech. Serv. Vét, n° 64 à 67,
3e trim, 1979, p. 125-140.
- 9 - JOUBERT L,
"Le risque animal dans la rage vulpine en France"
Lacunes de la réglementation et perspectives prophylactiques. Bull.Soc.Sci.Vet et Med.Comp.Lyon 1979 sous presse.
- 10 - BRUN A, et CHAPPUIS G,
L'élevage de chats et de chiens virus-free.
Rev. Méd. Vét., 1976, 127, 6, 889-899.
- 11 - PRECAUSTA P.
Vaccin antirabique inactivé à usage vétérinaire préparé à partir de culture cellulaire.
International Symposium on rabies (II), Lyon 1972.
Symp. series immunobiol. Standard., 21, 1974,
p. 162-178. (Livre Congrès n° 226).
- 12 - Doc. Vét/Inst. MERIEUX, Intern.
Les vaccins antirabiques à virus inactivé produits sur culture de cellules NIL 2.
- 13 - BLANCOU J.
Contrôle de l'immunité chez les animaux vaccinés.
La rage, Inf. Tech. Serv. Vét. n° 64 à 67, 3e trim. 1979, p. 141-145.
- 14 - ATANASIU P.
Titrage et épreuve d'activité du sérum et de l'immunoglobuline antirabiques.
La rage, Techniques de laboratoire 3e éd., O.M.S. Genève 1974, monogr. n° 23, p. 323-327.
- 15 - LORENZ R.J. et BOGEL K.
Méthodes de calcul.
La rage, Techn. de laboratoire 3e éd. O.M.S. Genève 1974; appendice 1, p. 331-345.

- 16 - WIKTOR T.J.
Méthodes des cultures cellulaires,
La rage, Techn. de laboratoire 3e éd. O.M.S.,
Genève 1974,
Monogr, n° 23, 9, p. 103-126.
- 17 - BIJLENGA G. et JOUBERT L.
La méthode des plages en rabiologie. Des appli-
cations dans la prophylaxie de la rage chez l'homme
et l'animal,
Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. Comp. Lyon, 1974,
76, n° 6, p. 429-436.
- 18 - SCLAVON J.M.
Le contrôle de l'immunité humorale antirabique
par la méthode des plages. Influence des rappels
annuels vaccinaux chez le chien.
Thèse Doct. Vét., Lyon 1975.
- 19 - SCLAVON J.M., BIJLENGA G. et JOUBERT L.
Sondage de contrôle de l'immunité antirabique
humorale post-vaccinale chez le chien par
la méthode de réduction des plages.
Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. comparée, Lyon
1976, 78, n° 3, p. 143-151.
- 20 - WIKTOR T.J. et KOPROWSKI H.
Monoclonal antibodies against Rabies Virus
produced by somatic cell hybridation :
Detection of antigenic variances Porc. Natl.
Acad. Sci. USA., 1978, 75, (8), p. 3938-3942.
- 21 - A. BRUN G. CHAPPUIS P. PRECAUSTA J. TERRE
Immunisation des chats contre la panleucopénie
et la rage,
Rev. Méd. Vét., 1976, 127, p. 1575-1580.

- 22 - KUCERA C.J., SANDVIG D.C., JOHNSON A.F, VB
A formalized and adjuvanted rabies vaccine
of tissue culture origin,
Biochemic Rev., 33, (2), 1969, p. 3-8.
- 23 - HIRSCH M.S., MURPHY F.A., NAHMIAS A.J. and
KAYE H.S,
Antilymphocyte serum effects on viral infections.
Fred. Proc., 1968, 27, 734.
- 24 - J. BLANCOU, M.FA. AUBERT et L. ANDRAL
Immunité humorale après vaccination contre la
rage niveaux comparés chez l'homme et l'animal.
Bull, Acad. Vét, de France, 1979, 52, p. 491-497.

TABLE DES MATIERES

=====

	<u>pages</u>
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : Place de la vaccination dans la prophylaxie anti- rabique du chat	3
Chapitre 1er : Epidémiologie de la rage du chat en France	4
Chapitre II : Intérêt de la prophylaxie antirabique du chat	8
A - Mesures sanitaires générales	9
- zone indemne : permanentes	9
- zone atteinte : permanentes renforcées	11
B - Avantages et limites de la vaccination	16
Chapitre III : Règlementation de la vaccina- tion antirabique du chat	18
A - Modalités de la vaccination	19
B - Personnes habilitées	21
C - Circonstances	21
DEUXIEME PARTIE : Contrôle sérologique en séro- neutralisation de l'immunité antirabique du chat adulte.	23
Principe	24
Chapitre 1er : Matériel, méthodes, techniques	25
A - Matériel commun	26

	<u>Pages</u>
B - Méthodes	27
a) in vivo : séroneutralisation sur souris	27
b) in vitro : méthode des plages	30
Chapitre II - Résultats, analyse et inter- prétation statistiques	34
A - Appréciation de l'immunité humorale post-vaccinale	42
a) en valeur absolue	42
b) selon la nature du vaccin	44
c) cinétique des anticorps	45
B - Comparaison des deux méthodes sérologiques	45
Chapitre III - Discussion	48
A - Matériel	49
a) Chats	
b) Virus	50
c) Sérums	50
B - Résultats	50
a) comparaison des vaccins	50
- association de plusieurs valences	
- rôle de l'adjuvant	
b) degré d'immunité humorale obtenu	52
c) niveau immunitaire moyen et cinétique individuelle	54
d) comparaison des deux méthodes.	55

CONCLUSIONS

I. C. VAUBECOUR

l'Imprimerie des étudiants lyonnais

11 et 13 Rue Vaubecour
LYON 69002 - Tél. 42 - 45 - 85

I. C. VAUBECOUR

l'Imprimerie des étudiants lyonnais

11 et 13 Rue Vaubecour
LYON 69002 - Tél. 42 - 45 - 85